Microscopía electrónica de barrido del aparato bucal y de la cavidad oral de la larva de *Leptodactylus ocellatus* (Linnaeus, 1758) (Anura, Leptodactylidae)

Dinorah D. Echeverría

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA), Departamento de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Vertebrados, 1428 Buenos Aires, Argentina

Scanning electron microscopy showed that the buccal apparatus of *Leptodactylus ocellatus* larva has a well developed horny beak with teeth with a main cusp. It has multicusped labial teeth with 6 to 8 denticles slightly marked neck and shows the tooth base (or horny sheath) as long as the paddle. Larval internal oral features are most similar to those of the *L. fuscus* group (especially shape and location of the secretory pits, low number of buccal floor arena papillae, 10 to 14 papillae on each side) and differ from them on the presence of a *prenarial channel* on the buccal roof. The prenarial channel could play a part in driving the feeding water with small food particles into the buccal cavity and shunt the food then into the esophagus. The keratinized buccal structures allow grazing activity on the periphyton. Planktonic diatoms have been found in the foregut.

Introducción

En los anuros, la diagnosis de un taxón específico generalmente se basa en diversos aspectos anatómicos y biológicos referidos a la forma adulta, mientras que al estadio de larva sensu lato se le ha restado importancia. En el caso de *Leptodactylus ocellatus* se ha estudiado el canto (Barrio, 1964), la reproducción y el comportamiento asociado (Cei, 1948, 1949; Vaz Ferreira & Gehrau, 1974, 1975), la serología (Cei & Bertini, 1961), la bioecología (Gallardo, 1964) y la anatomía (Limeses et al., 1972, Heyer, 1968). Las larvas de *Leptodactylus ocellatus* han sido descritas por Fernandez & Fernandez (1921) en los aspectos morfológicos generales. En la actualidad es posible ampliar las descripciones de las larvas incluyendo en ellas, por ejemplo, la descripción del aparato bucal y de la cavidad oral realizada con microscopio electrónico de barrido.

Las larvas de los leptodactílidos han sido ampliamente estudiadas en tal sentido por Wassersug & Heyer (1983, 1988). Estos autores han establecido pautas generales para la caracterización morfológica de los renacuajos de aguas quietas (pond tadpole) y de aguas corrientes (stream tadpole) que involucran relaciones fundamentales entre la anatomía bucal y el medio ambiente en que se desarrollan.

El propósito de este trabajo es completar la caracterización anatómica de la boca y de la cavidad bucal de las larvas de *Leptodactylus ocellatus* describiendo los caracteres microanatómicos de las mismas y discutir las implicaciones ecológicas que surjan.

Material y métodos

La muestra constó de cuarenta y seis larvas de *Leptodactylus ocellatus* que fueron capturadas en cuerpos de agua semipermanentes de la provincia de Buenos Aires (en las localidades de Magdalena, Del Viso, Pilar, San Miguel y José C. Paz), y en la provincia de Misiones (Posadas). Las larvas forman parte de la colección de larvas depositadas en el Laboratorio de Vertebrados bajo las siglas: LARV-DDE y LARV-DDE-MEB.

Los ejemplares corresponden a los estadios 31 al 38 según la nomenclatura de Gosner (1960).

Las larvas fueron fijadas in toto en Ancel y Vitemberger (Rough, 1962) o formol al 10 %.

Las observaciones del aparato bucal y de la cavidad oral se efectuaron con microscopio electrónico de barrido (MEB) y estereoscópico. Combinando ambos métodos de observación se compusieron las figuras 5a y 5b que integran los detalles del resto de las figuras.

Para facilitar el estudio con MEB se procedió a separar la región del disco oral del resto del cuerpo. Para efectuar el exámen de la cavidad oral se separaron las regiones del techo y piso de la boca, según la técnica aplicada por Wassersug (1980).

En el caso de utilizar el microscopio estereoscópico, se procedió a realzar la forma de las papilas y pústulas dejando extender una gota de azul de metileno (en solución acuosa 1 %) o de hematoxilina de Carazzi, sobre cada pieza a examinar sumergida en formol al 4 %.

El material utilizado para las observaciones con MEB fue deshidratado paulatinamente según la técnica aplicada por Fiorito de López & Echeverría (1984). La metalización de las piezas se realizó en oro-paladio.

La nomenclatura aplicada para la descripción del aparato bucal y de los dientes córneos se basó en las propuestas por Van Dijk (1966) y Deunff & Beaumont (1959) respectivamente. En cuanto a la nomenclatura de la cavidad bucal se utilizó la propuesta por Viertel (1982).

Resultados

El borde papilar del disco oral presenta una brecha dorsal amplia (fig. 1) Las papilas marginales se disponen en las zonas laterales y ventral del disco. Las papilas presentan forma cónica, con el extremo liso y romo, siendo las de posición mental las que presentan

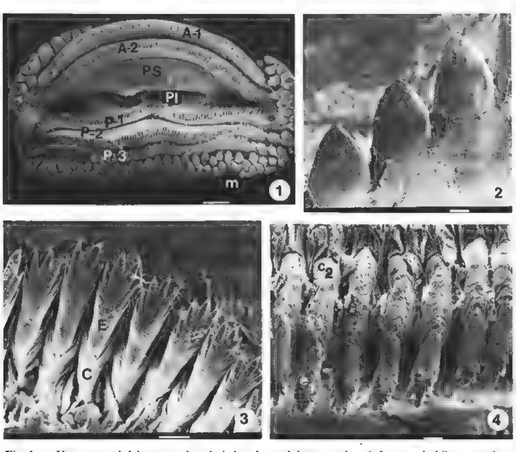


Fig 1. — Vista general del aparato bucal A-1: primera hilera anterior; A-2: segunda hilera anterior; P-1: primera hilera posterior; P-2 segunda hilera posterior; P-3: tercera hilera posterior; PI: parte inferior del pico córneo; PS: parte superior del pico córneo; m papila marginal. Escala 100 µ

Fig. 2. — Infrarostrodontos. Escala: 10 µ.

Fig. 3. — Queratodontos en P-3. C: cono de la raíz o cubierta córnea, E espátula Escala· 10 µ.

Fig. 4. Queratodontos en A-1 desgastados. Aspecto modificado de la espátula (e) y cubierta córnea (c). 1: del diente córneo por desprenderse, 2. del diente córneo emergiendo Escala· 10 µ

más marcadamente este último carácter (fig. 1). En la región lateral del disco se hallan varias hileras de papilas, mientras que en el borde papilar mental y angular superior generalmente se hallan dos hileras alternadas con papilas de distinta altura.

El pico córneo está bien desarrollado y queratinizado. Los rostrodontos están dispuestos en empalizada; presentan una cúspide aguda o redondeada (fig. 2).

Los pliegues labiales se disponen en cinco hileras, dos anteriores y tres posteriores que sostienen a los queratodontos. Esta disposición determina la fórmula dentaria 2/3 en todos los ejemplares de la muestra. Todas las hileras se extienden desde un extremo al otro de

las áreas marginales laterales En algunos casos la P-1 puede presentar una escotadura mediana dirigida hacia la región bucal (fig. 1).

Los queratodontos presentan una espátula alargada, más larga que ancha, con dentículos en número de seis a ocho. El cuello es poco marcado. El cono de la raíz generalmente alcanza el largo de la espátula (fig. 3).

A medida que los dientes emergen, se puede observar que las camadas más antiguas o distales pueden permanecer asociadas con la camada inmediata inferior que la sostiene. Se observaron de una a tres camadas de dientes, la más distal con los dientes funcionales desgastados mientras que de las restantes se observa solamente la cubierta córnea o cono de la raíz donde se sostienen (fig. 4).

Cavidad bucal

Piso de la boca (fig. 5a)

El orificio de la boca se halla flanqueado por un par de papilas infralabiales (PI), con dos ramas (papila bifurcada).

Sobre el esbozo lingual (L) se hallan tres a cuatro (estadios 31 al 33 en adelante, respectivamente) papilas linguales (PL) cónicas y altas.

La superficie del piso de la cavidad oral está limitada por altas papilas periféricas (PP), dispuestas en dos arcos laterales con 10 a 14 papilas en cada uno. Se pueden hallar pústulas (papilas bajas, con el ápice romo, que apenas emergen del piso de la cavidad bucal) sin orden aparente, pero que se hallan más acumuladas en la región posterior de la arena del piso de la boca (fig. 6).

Las hendiduras bucales (H) son alargadas, elípticas y están orientadas con el extremo interno dirigido hacia la región anterior de la cavidad oral.

El velo ventral (V) presenta proyecciones marginales (F) espaciadas y una escotadura mediana (M) bien marcada.

Se hallan fosetas glandulares sobre las proyecciones marginales del velo y sobre los bordes que las separan (fig. 7).

Techo de la boca (fig. 5b)

El área prenarial presenta un par de tabiques bajos dispuestos en forma de L invertida (*canal prenarial*) (fig. 8).

Las coanas (C) elípticas están dispuestas en posición transversal, respecto de la cavidad bucal. Las válvulas nasales (N) están bien desarrolladas y presentan un borde discontinuo (fig. 5b).

Bordeando el área postnarial se hallan tres pares de formaciones: (1) un par de *papilas postnasales* (P) bien desarrolladas y alargadas, cuyo borde ventral se observa convexo y discontinuo, levemente festoneado; (2) un par de *papilas pre-pliegue* (PG), es decir papilas

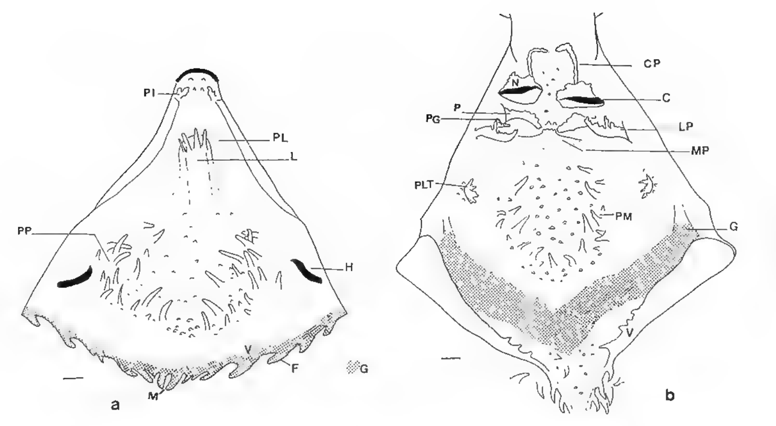


Fig. 5. — Cavidad oral. a: piso; b: techo. C: coana; CP: canal prenarial; F: proyección marginal; G: región glandular; H: hendidura (o bolsillo) bucal; L: esbozo lingual; LP: pliegue lateral; M: escotadura mediana; MP: pliegue mediano; N: válvula nasal; P: papila postnasal; PG: papila pre-pliegue; PI: papila infralabial; PP: papilas periféricas del área del piso de la boca; PM: papilas del márgen de la arena del techo de la boca; PL: papilas linguales; PLT: papilas laterales del techo de la boca; V: velo. Escala: 100 µ.

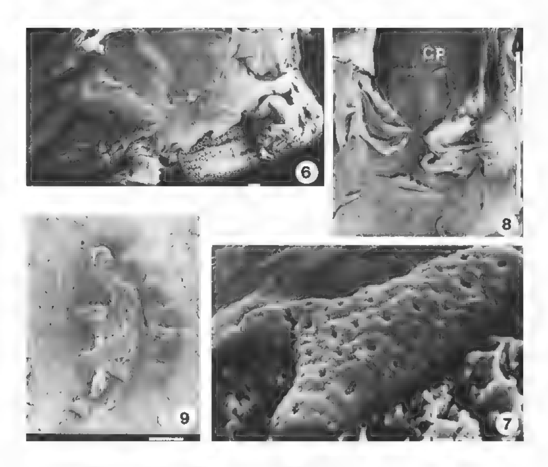


Fig. 6. — Detalle de la arena del piso de la boca. Escala: 100 μ.

Fig. 7. — Proyección marginal del velo, con fosetas glandulares. Escala: 10 μ.

Fig. 8. — Vista general de la región anterior del techo de la cavidad bucal. CP: canal prenarial. Escala 1000 μ.

Fig. 9. — Grupo de papilas laterales del techo de la boca. Escala: 100 μ.

de posición anterior al pliegue lateral, que presentan escaso tamaño, aproximadamente 1/4 de la longitud de la papila postnasal; (3) un par de formaciones que constituyen el *pliegue lateral* (LP). Cada proyección del pliegue lateral presenta el borde dorsal liso y convexo, mientras que el borde ventral presenta seis a siete proyecciones o papilas, siendo más prolongadas una o dos de las centrales.

El pliegue mediano, en forma de proyección semicircular, presenta en el borde ventral mediano, pequeños salientes o pústulas que se acentúan en los estadios 35. La cara anterior muestra escasas pústulas y la cara posterior es lisa.

En la superficie del techo de la boca son notables las pústulas centrales rodeadas por largas papilas cónicas y simples. Las papilas del techo de la boca pueden hallarse en

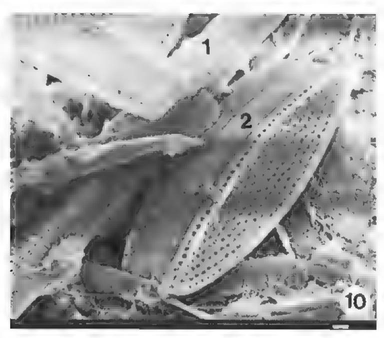


Fig 10 Diatomeas en el contenido del intestino anterior. 1: *Fragilaria ulna*; 2: *Nitzschia* sp. Escala: 1 μ.

número de diez a doce en cada lado. A los lados del techo de la boca se halla un grupo de *papilas laterales* (fig. 9).

La región glandular (G) se dispone en forma de V en una amplia banda posterior en la que se hacen visibles las fosetas secretoras redondeadas semejantes a las halladas sobre las proyecciones marginales del velo ventral. El velo dorsal presenta escasas proyecciones marginales hacia la región mediana

Cabe destacar que se hallaron frústulos de *Fragilaria ulna* y *Nitzschia* sp. en las coanas, entre las hileras dentarias y en el intestino anterior (fig. 10)

DISCUSIÓN

Los estudios realizados por WASSERSUG & HEYER (1983, 1988) en larvas de leptodactílidos sudamericanos llevan a estos autores a concluir que se podría establecer una relación directa entre la proliferación o aumento de tamaño de ciertas estructuras de la cavidad bucal y la forma de vida de los renacuajos de aguas en movimiento, aunque comentan que, en algunos casos, no les fue posible asociar la anatomía bucal con el microhabitat.

La mayoría de las larvas examinadas por WASSERSUG & HEYER (1988) que presentaron caracteres orobranquiales de renacuajos de aguas quietas fueron *Leptodactylus chaquensis*, *L. mystacinus*, *L. fuscus* y *L. gracilis*.

En *Leptodactylus ocellatus* se hallaron algunos caracteres morfológicos comunes con las especies anteriormente mencionadas como son la presencia de tres o cuatro papilas linguales; el bajo número de papilas postnariales; y la papilación del pliegue lateral. Si bien se diferencia de las especies mencionadas por los siguientes caracteres: (1) la presencia de un reborde antero-posterior en la región prenarial, o *canal prenarial*; (2) la presencia de papilas laterales simples, aisladas y agrupadas, bien desarrolladas; (3) los márgenes del velo dorsal con papilas espaciadas y bien desarrolladas, que se hallan más abundantes hacia la región mediana, (4) el desarrollo de las papilas del puente medio sobre el margen ventral

El canal prenarial propio de *L. ocellatus* muestra una disposición parecida al relieve que presentan en la cavidad oral las larvas de *Colostethus nubicola*, dendrobátido con boca en embudo hallado en charcas de desbordes de las márgenes del Río Aquabiena en Costa Rica (WASSERSUG, 1980). Además las larvas de *L. ocellatus* comparten con los hylodinos de aguas corrientes la combinación de caracteres referidos a la posición, forma y desarrollo de las papilas bucales y del velo. Estas características son asociadas por WASSERSUG & HEYER (1983, 1988) a la vida en aguas en movimiento, cuando en realidad el habitat más frecuente en que se desarrollan las larvas de *L. ocellatus* son las aguas estancadas, con mucha vegetación, preponderantemente con macrofitos enraizados

Es posible que el canal prenarial hallado en *L. ocellatus* contribuya a favorecer el desarrollo de una corriente de succión del agua con el alimento en suspensión que podría contribuir a conducir el alimento directamente hacia el interior de la cavidad bucal donde se hallan las abundantes y conspicuas fosetas secretoras de mucus.

GALLARDO (1974) y VAZ FERREIRA & GEHRAU (1971, 1974, 1975) han observado que los renacuajos de *L. ocellatus* se reúnen en cardúmenes, que se alimentan de diatomeas y algas cianofíceas y que en ciertas oportunidades raspan el dorso de los adultos para conseguir alimento. Estas afirmaciones indicarían, en primera instancia, que los renacuajos de *L. ocellatus* podrían implementar distintas estrategias de obtención del alimento.

A juzgar por los grandes acúmulos de frústulos de diatomeas como *Fragilaria ulna* presentes en el plancton hallado en el exterior de la boca y en el intestino anterior de las larvas de *L. ocellatus* examinadas, y considerando la tendencia de las mismas al gregarismo, es posible que al desplazarse en el agua ondulando la cola, el cardumen podría provocar una corriente de agua que movilice los microfitos (algas epilíticas y epifíticas) que se hallaren a su alrededor, en el bentos y perifiton. Cada miembro del cardumen podría lograr encauzarlos hacia el interior de la boca favorecidos por la presencia del canal prenarial. Esta estrategia alimentaria no implica necesariamente la ausencia de dientes córneos; de hecho, *L. ocellatus* los presenta espatulados y bien distribuidos, con una fórmula dentaria constante (2/3), lo que les permitiría, en otras oportunidades, raspar las superficies de los macrofitos sumergidos. Esta acción podría ser ejercida escasamente por las larvas cuando pueden obtener alimento de capturas en grupo. La presencia de varias camadas de queratodontos sin desprenderse así podría indicarlo. De acuerdo con las observaciones de FIORITO DE LÓPEZ & ECHEVERRÍA (1989) en *Bufo arenarum*, si los dientes

labiales funcionales fueran sometidos frecuentemente a la acción de raspar, no podrían sostenerse varias camadas en el exterior. Es posible que la existencia en *L. ocellatus* de una combinación de caracteres propios de larvas de estanque y de aguas en movimiento se pueda atribuir a un fenómeno de convergencia adaptativa. Esto quizás podría estar apoyado por las estrategias alimentarias que utilizan y el tamaño de la partícula de alimento hallado más frecuentemente (diatomeas epífitas), que deberán concentrar para ser ingeridos en grandes cantidades, sin utilizar directamente los queratodontos.

RESUMEN

Las observaciones del aparato bucal y de la cavidad oral con microscopio electrónico de barrido de las larvas de *Leptodactylus ocellatus* revelaron que ellas poseen un pico córneo bien desarrollado, con dientes que presentan una cúspide. Los dientes labiales son multicuspidados, con 6 a 8 dentículos; y con un cuello levemente marcado.

La cavidad oral mostró caracteres similares a las larvas del grupo *L. fuscus* hasta el momento estudiadas (especialmente en cuanto a la forma y localización de las fosetas secretoras) y difieren de ellas por la presencia de un canal prenarial que se halla en el techo bucal. El canal prenarial podría intervenir dirigiendo el flujo de agua con el alimento hacia la cavidad bucal y permitir la circulación del alimento hacia el esófago. Las estructuras córneas permiten también utilizar el perifiton como alimento.

En el intestino anterior se hallaron acúmulos de frústulos de diatomeas planctónicas.

AGRADECIMIENTOS

Al señor Dante GIMENEZ del Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido dependiente del Instituto de Investigaciones Científicas y Técnicas de las Fuerzas Armadas (CITEFA), por el apoyo técnico brindado. A la Lic. Olga B VACCARO por su contribución con las larvas de la localidad de Magdalena. A la Dra. Graciela B ESNAL por facilitarme la utilización del microscopio estereoscópico con cámara de dibujo.

LITERATURA CITADA

BARRIO, A., 1964 — Importancia, significación y análisis del canto de batracios anuros *Publ. com. Cincuentenario Mus. prov Cienc. nat. F. Ameghino, S. Fé*: 51-79.

CEI, J. M., 1948. — El ritmo estacional en los fenómenos cíclicos endócrinosexuales de la rana criolla *Leptodactylus ocellatus* (L.) del norte argentino. *Acta zool. lilloana*, 6. 283-331.

----- 1949. — Factores genético-raciales que diferencian la regulación hormonal del ciclo sexual en *Leptodactylus ocellatus* (L) de la Argentina. "Razas de temperatura" y sus relaciones con algunas características climáticas regionales. *Acta zool. lilloana*, 7: 113-134

CEI, J M. & BERTINI, F., 1961 — Serum proteins in allopatric and sympatric populations of *Leptodactylus ocellatus* and *L. chaquensis*. *Copeia*, 1961: 336-340.

Deunff, F. & Beaumont, A., 1959. — Histogénèse des dents et du bec cornés chez les larves de *Discoglossus pictus* Otth. *C. r. Soc. Biol.*, **153**: 1162-1164.

Fernandez, K. & Fernandez, M., 1921. — Biología y reproducción de algunos batracios argentinos. I. Cystignathidae. *An. Soc. cient. arg.*, **91**: 97-139.

Fiorito de López, L. E. & Echeverría, D. D., 1984. — Morfogénesis de los dientes larvales y pico córneo de *Bufo arenarum* (Anura, Bufonidae). *Rev. Mus. arg. Cs. nat. Bernardino Rivadavia, Zool.*, **13** (60): 573-578.

----- 1989. — Microanatomía e histogénesis del aparato bucal en las larvas de *Bufo arenarum* (Anura, Bufonidae). *Cuad. Herp.*, **4** (2): 4-10.

Gallardo, J. M., 1964. — Consideraciones sobre *Leptodactylus ocellatus* (L) (Amphibia, Anura) y especies aliadas. *Physis*, **24** (68): 373-384.

----- 1974. — *Anfibios de los alrededores de Buenos Aires*. Buenos Aires, Eudeba: 1-231.

Gosner, K. L., 1960. — A simplified table for staging anuran embryos and larvae, with notes on identification. *Herpetologica*, **16**: 183-190.

Limeses, C. E., Vignes, I. & Tío, M., 1972. — Las especies argentinas del género *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae). Algunos aspectos anatómicos de posible significación taxonómica. Parte II. *Physis*, **31** (83): 631-652.

Lynch, J. D., 1973. — The transition from archaic to advanced frogs. *In*: J. L. Vial (red.), *Evolutionary biology of the anurans*, Columbia, Univ. Missouri Press: 133-182.

Heyer, W. R., 1968. — The proper name for the type-species of the genus *Leptodactylus*. *Copeia*, **1968** (1): 160-162.

----- 1969. — The adaptive ecology of the species groups of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Evolution*, **23** (3): 421-428.

Rough, R., 1962. — *Experimental embryology. Techniques and procedures*. Burguess Publishing Co.

Van Dijk, D. E., 1966. — Systematic and field keys to the families, genera and described species of the southern African anuran tadpoles. *Ann. Natal. Mus.*, **18** (2): 231-286.

Vaz Ferreira, R. & Gehrau, A., 1971. — Agrupaciones y comportamiento social de renacuajos de *L. ocellatus* (L). *Resumen V Congreso Latinoamericano Zool.*: 12-13.

----- 1974. — Protección de la prole en leptodactylidos. *Revista Biol. Uruguay*, **2** (1): 56-62.

----- 1975. — Comportamiento epimelético de la rana común *Leptodactylus ocellatus* (L) (Amphibia, Leptodactylidae). I. Atención de la cría y actividades alimentarias y agresivas relacionadas. *Physis*, **34 C** (88): 1-14.

Viertel, B., 1982. — The oral cavities of central european anuran larvae (Amphibia): morphology, ontogenesis and generic diagnosis. *Amphibia-Reptilia*, **4**: 327-360.

Wassersug, R., 1980. — Internal oral features of larvae of eight anuran families. *Misc. Publ. Mus. nat. Hist. Univ. Kansas*, **68**: 1-146.

Wassersug, R. & Heyer, W. R., 1983. — Morphological correlates of subaerial existence in leptodactylid tadpoles associated with flowing water. *Can. J. Zool.*, **61**: 761-769.

----- 1988. — A survey of internal oral features of leptodactylid larvae (Amphibia. Anura). *Smithsonian Contrib. Zool.*, **457**: 1-99.

Corresponding editor: Marvalee H. Wake.